

invitrogen



Purify DNA



Purify RNA



Quantification



Analyze

Invitrogen Qubit 4 荧光计

尤其适合样品珍贵、对准确性要求极高的应用领域

ThermoFisher
SCIENTIFIC

哪些用户需要使用 Qubit 4 荧光计

如果您的样品十分珍贵或用于精密应用领域，或者您为了获得研究结果进行了巨大的投入，那么 Invitrogen™ Qubit™ 4 荧光定量计就是您的理想之选。想想下面这些问题：

- 需要快速检测 RNA 样本的完整性和质量？
- 提取后的 DNA、RNA 或蛋白质量很少吗？
- 我要使用诸如实时定量 PCR (qPCR) 或下一代测序方法等需要精密测定的实验方法吗？
- 我要进行诸如转染等需要几天甚至几周才能获得结果的实验吗？
- 我的样品制备过程复杂而且需要诸如激光捕获显微切割等特殊技术吗？
- 我的样品十分珍贵而且难以处理吗？
- 该样品将被用于成本高昂的下游实验吗？

为什么要使用 Qubit 4 荧光计？

Qubit 4 荧光计采用专门研制的荧光检测技术和 Invitrogen™ Molecular Probes™ 染料。这些染料荧光只有与特异性的靶分子结合时，才能发射荧光信号，即使有游离核苷酸或降解核酸存在，这些染料仍能发挥作用。Qubit 4 荧光定量即便在低浓度下亦具有目前最高的 DNA 和 RNA 定量特异性和灵敏度。

- **选择性** — Qubit 荧光定量 (图 1) 采用 Qubit 分析试剂盒 (表 1)，其包括专利的染料，只有与 DNA、RNA 或蛋白质结合时方可发出荧光。由于 Qubit 技术只报告靶分子 (而不是杂质) 的浓度，因此这种特异性可以使您获得十分精确的结果
- **灵敏性** — 最低仅需 1 μL 样品，能精确可靠地定量浓度仅为 10pg/ μL 的 DNA 和 12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的蛋白质样本
- **简单直观** — 反应灵敏的 5.7 英寸彩色触摸屏，直观的导航按钮
- **迅速** — 全新的双核处理器，5 秒内快速计算样品浓度，最多存储 1000 个结果
- **个性化** — 个性化设置常规应用，可通过 MyQubit 软件和网络工具创建个性化 assay，六国操作语言可供选择

上市 12 年来，Qubit 荧光计一直以其极高的准确度和灵敏性，受到全球上万个实验室的青睐。迄今为止，已经有 17,500 篇有关 Qubit 的文献引述。最新推出的 Qubit 4 荧光计秉承上一代仪器的高准确性，不仅仅可精确测量样品 DNA，RNA 和蛋白质含量，还拥有全新的功能，包括：

- **适用全新 RNA IQ assay** — 快速可靠地检测 RNA 完整性和质量
- **数据导出** — 除 U 盘和 USB 连接电脑导出数据，还拥有 WiFi 功能
- **内置试剂计算器** — 快速计算配置工作溶液所需的染料和缓冲液



图 1. Qubit 荧光定量系统。

表 1. Qubit 分析试剂盒的分析范围。

试剂盒	分析范围	样本起始浓度
Qubit dsDNA HS 分析试剂盒	0.2-100 ng	10 pg/ μL -100 ng/ μL
Qubit dsDNA BR 分析试剂盒	2-1000 ng	100 pg/ μL -1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
Qubit ssDNA 分析试剂盒	1-200 ng	50 pg/ μL -200 ng/ μL
Qubit RNA HS 分析试剂盒	5-100 ng	250 pg/ μL -100 ng/ μL
Qubit RNA XR 分析试剂盒	20-8000 ng	1 ng/ μL -8 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
Qubit RNA BR 分析试剂盒	20-1000 ng	1 ng/ μL -1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
Qubit microRNA 分析试剂盒	1-100 ng	0.05 ng/ μL -100 ng/ μL
Qubit 蛋白质分析试剂盒 *	0.25-5 μg	12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ -5 mg/mL

*Qubit 蛋白质分析试剂盒能与各种还原剂同时使用。它可耐受 0.01% SDS，但不可使用其它去污剂。

Qubit 荧光定量的工作流程

Qubit 荧光定量采用荧光染料对目标生物分子进行定量

采用 Qubit 4 荧光计完成的 Qubit 分析均采用同一种通用实验方案。进行 DNA 和 RNA 分析只需混合然后读数，孵育时间仅为 2 分钟，蛋白质分析孵育时间为 15 分钟 (图 2)。请登录 thermofisher.com/qubit，查看 Qubit 分析的实验方案。实验完成，Qubit 4 荧光计会自动保存您的实验数据，最多 1000 个。此外，您可以通过 U 盘，USB 数据线或 WiFi 导出数据。

将染料和缓冲液置于室温下储存，以获得最佳结果。DNA、RNA 和蛋白质标准品置于 4°C 储存。使用前，确保所有分析试剂均在室温下。

* 除了常用的 dsDNA, oligos, total RNA, microRNA, RNA IQ 和 protein 分析之外，使用 Ion Sphere Quality Control Kit，还可用于检测 Ion Sphere Particle 的质量，以用于 Ion PGM 测序仪。

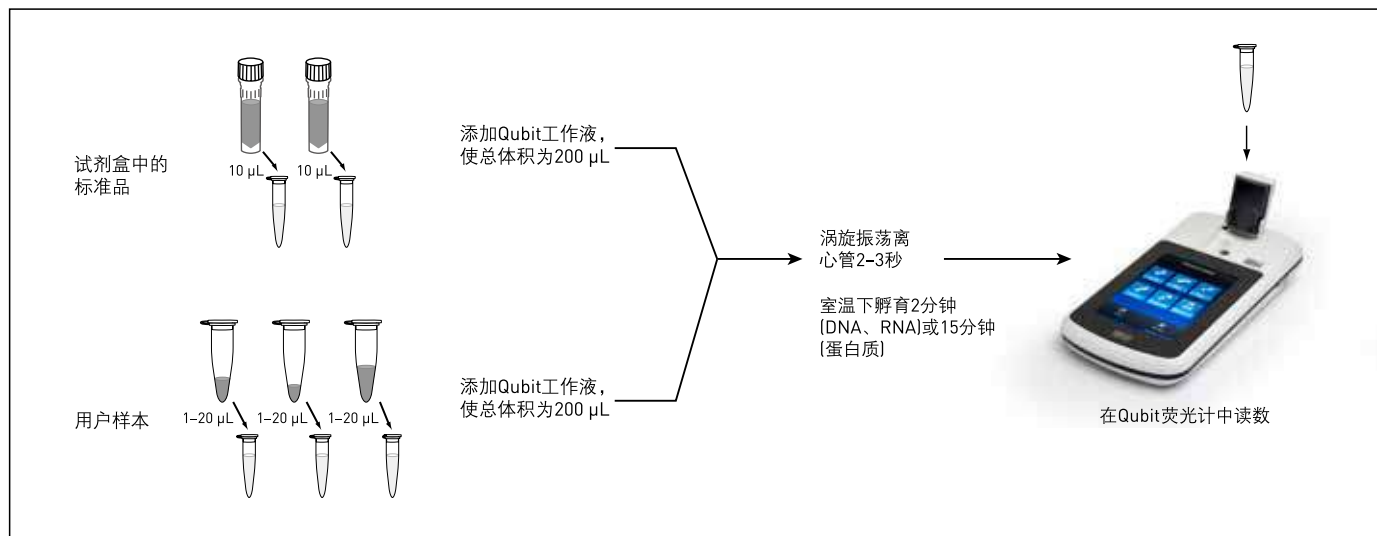


图 2. 采用 Qubit 4 荧光计进行 Qubit 分析的工作流程。

Qubit 操作简单直观



内置试剂计算器。输入样品和标准品的数量，使用此工具可帮助您快速计算配置工作溶液需要的染料和缓冲液。

Qubit 荧光定量与 NanoDrop 及其它紫外分光光度计定量方法有何不同？

Thermo Scientific™ NanoDrop™ 及其它紫外分光光度计均采用紫外吸光度进行检测，它无法区分出 DNA、RNA、降解核酸、游离核苷酸及其它杂质。而 Qubit 定量平台采用荧光染料检测特异目标分子的浓度。

尽管紫外吸收定量法是最常用的一种 DNA 或 RNA 定量方法，但其读数并不可靠且不精确⁽¹⁻⁴⁾。紫外吸光度读数不加区别检测吸光度为 260nm 的所有物质，包括 DNA、RNA、蛋白质、降解核酸和游离核苷酸。由于 Qubit 4 荧光计只检测目标分子，因此其读数一般低于 A260 读数，定量更精确。

此外，分光光度计的灵敏度不足，无法完成低浓度 DNA 和 RNA 的定量。相反，Qubit 4 荧光计能在较低的浓度范围内得出比采用 NanoDrop 分光光度计进行紫外吸收检测更准确、精密的结果 (图 3)。鉴于上述缺点，使用荧光染料定量核酸已成为一种常见的替代方法^[5-8]。

低浓度下的准确度和精度比较

Qubit 荧光定量能在较低的浓度范围内得出比采用 NanoDrop 分光光度计进行紫外吸光度检测更准确、更精密的结果。采用 Qubit dsDNA HS 分析试剂盒及 Qubit 荧光计，定量浓度仅为 10 pg/μL 的样本中的 DNA，测得值在实际值的 ±12% 范围内 (图 3A)。而采用 NanoDrop 分光光度计测量上述同样样本，测得的浓度比实际值高 46 倍。使用 Qubit 荧光计检测低至 10 ng/μL DNA 的样本 (NanoDrop 分光光度计的报道下限值为 2 ng/μL)，测得值在实际值的 ±1% 范围内，使用 NanoDrop 分光光度计测定的浓度在实际值的 ±5% 范围内。此外，采用 Qubit 荧光计检测 DNA 浓度低至 0.5 ng/μL 的样本，所有样本的重复差异 (%CV) 均 ≤1% (图 3B)。而采用 NanoDrop 分光光度计检测，只有 DNA 浓度为 4ng/μL 及以上的样本的 %CV 低于 9%。

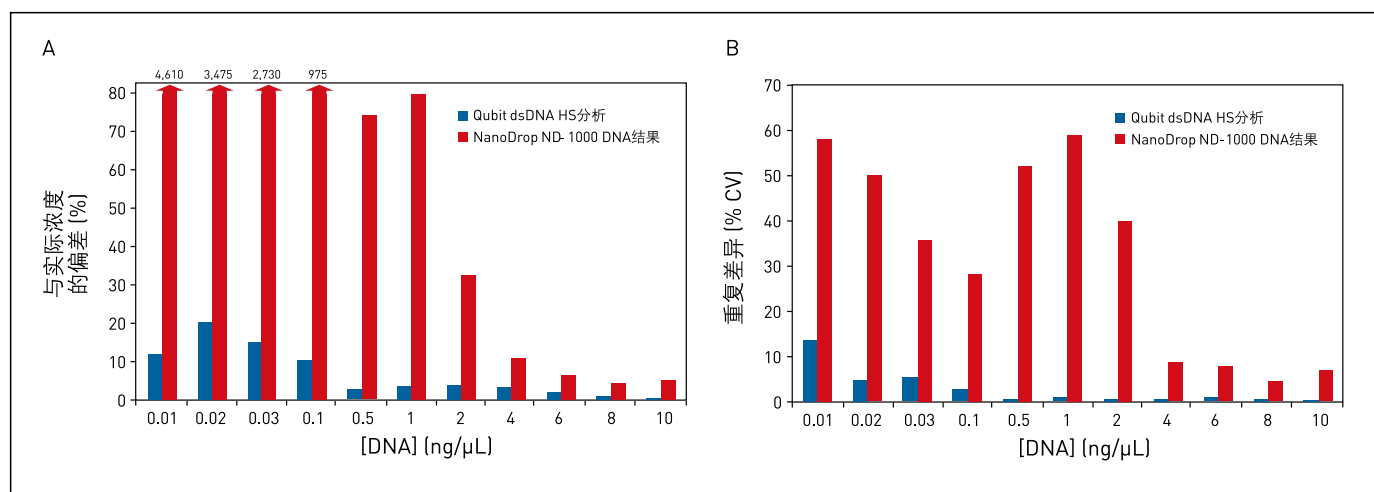


图 3. Qubit 荧光定量的准确度和精度。根据标准试剂盒实验方案，在 Qubit 荧光计中采用 Qubit dsDNA HS 分析试剂盒重复 10 次测量浓度在 0.01 至 10ng/μL 之间的 lambda DNA。同时采用 NanoDrop ND-1000 分光光度计重复 10 次测量相同浓度的 DNA，比较结果的准确度 (A) 和精度 (B)。准确度定义为与已知浓度的平均偏差。标示的浓度是在 Qubit 分析管中稀释前起始样本的 DNA 浓度。

参考文献

1. Glasel JA (1995) *Biotechniques* 18:62-63.
2. Huberman JA (1995) *Biotechniques* 18:636.
3. Manchester KL (1995) *Biotechniques* 19:208-210.
4. Manchester KL (1996) *Biotechniques* 20:968-970.
5. Singer VL, Jones LJ, Yue ST et al. (1997) *Anal Biochem* 249:228-238.
6. Jones LJ, Yue ST, Cheung CY et al. (1998) *Anal Biochem* 265:368-374.
7. LePecq JB (1966) *Anal Biochem* 17:100-107.
8. Kapuscinski J (1995) *Biotech Histochem* 70:220-233.

针对 DNA 或 RNA 的选择性比较

采用 Qubit 荧光定量和紫外吸光度测量核酸浓度最明显的差异在于 Qubit 分析的选择性，Qubit 分析针对目的分子具有极高的特异性，可提供较紫外吸光度更准确的信息。采用紫外分析时，同时含有 DNA 和 RNA 的样本结果无差别，您无法将它们 DNA 和 RNA 区分开来。而 Qubit 荧光定量能够准确测定同一样本中的 DNA 和 RNA (图 4)。在本实验中，样本含有相同含量的 DNA 和 RNA，采用 Qubit dsDNA BR 分析试剂盒测得的 DNA 浓度在实际含量的 $\pm 2\%$ 范围内。此外，在 RNA 含量较 DNA 高 10 倍的样本中，采用 DNA 分析测得的浓度仅比实际值高 7%。而采用 NanoDrop 分光光度计进行紫外吸光度检测，无法准确测量上述样本中的 DNA 和 RNA 含量，这增加了后续实验中出错的可能性。

灵敏度和范围比较

采用 Qubit 荧光计及 Qubit 分析试剂盒的灵敏度高于紫外吸光度检测，由于该分析能够检测 1–20 μL 的样本，因此分析的有效范围进一步扩大。Qubit dsDNA HS 和 BR 分析试剂盒覆盖的样本浓度范围为 10 $\text{pg}/\mu\text{L}$ 至 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ DNA。据制造商报道，NanoDrop 分光光度计覆盖的样本浓度范围为 2 $\text{ng}/\mu\text{L}$ 至 15 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ，由此可见，Qubit 适合的浓度范围更宽，不过，高浓度样本在分光光度计上测定就不必稀释。

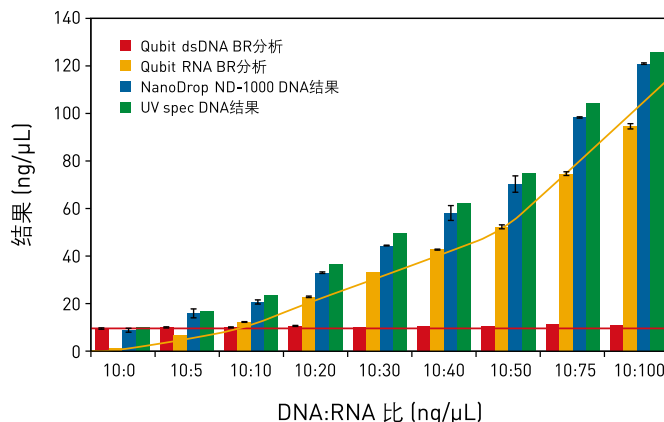


图 4. Qubit 分析与紫外分光光度法相比具有选择性。采用 Qubit dsDNA BR 和 Qubit RNA BR 分析试剂盒及 Qubit 荧光计，按照试剂盒实验方案检测含有 lambda DNA (10 $\text{ng}/\mu\text{L}$) 和不同量的大肠杆菌核糖体 RNA (0–100 $\text{ng}/\mu\text{L}$) 的样本，每个样品重复 3 次。然后采用 NanoDrop ND-1000 分光光度计检测同一样本三次，采用 PerkinElmer Lambda 35 分光光度计检测一次。标示的浓度是在 Qubit 分析管中稀释前起始样本的 DNA 和 RNA 浓度。红色和橙色趋势线分别表示起始样本中 DNA 和 RNA 的实际含量。(分别) 稀释纯的浓缩 DNA 和 RNA 溶液，采用 PerkinElmer Lambda 35 分光光度计测定 260 nm 处的光密度，使稀释后溶液的光密度值为 1.0，设定核酸的实际浓度。然后计算储备液浓度，用于后续稀释。采用紫外分析时，同时含有 DNA 和 RNA 的样本结果无差别 - 您无法将它们区分开来。

如何创建个性化的分析应用？

荧光计模式

选择荧光计模式，Qubit 4 荧光计就可以被用做小型的荧光计。在荧光计模式里，不同于使用分析试剂盒时的校准和基于算法的计算结果，仪器直接产生并显示每个样本的原始荧光数据 (RFU)。荧光计模式允许您可以手动选择发射光源：蓝色 LED (最大 ~470 nm) 或红色 LED (最大 ~635 nm)。如果选择蓝光发射，仪器读取绿色或远红外通道的荧光；如果选择红光发射，则仅读取远红外通道的荧光。

通过荧光计模式收集的数据可以用于设计您的个性化 assay 配合 MyQubit 创建新的分析类型。

MyQubit- 为 Qubit 4 荧光计设计和创建新的分析类型

Qubit 4 荧光计与 MyQubit assay 设计工具兼容。您只需在此在线工具上输入您的 assay 参数，保存并上传 .qbt 文件至您的 Qubit 4 荧光计，即可运行您的个性化分析，拓展 Qubit 的应用范围。了解更多，请登录 thermofisher.com/myqubit

* 目前，我们已开发 6 个新的分析 (胆固醇、葡萄糖、半乳糖、谷氨酸、过氧化氢、蔗糖分析)，如有需要可直接下载上传至您的 Qubit。

Qubit RNA IQ Assay

快速、准确地检测 RNA 完整性和质量

RNA 样品的质量评估对于下游的实验的成功尤为重要。全新上市的 Invitrogen™ Qubit RNA IQ (Integrity & Quality) 试剂盒和 Qubit 4 荧光计配套使用，只需两步就可以准确区分完整和降解 RNA，快速评估 RNA 质量或降解程度。无需特殊的处理步骤，繁杂的样本制备或漫长的等待过程——最少仅需 1 μ L，浓度为 0.5-1.5 μ g/ μ L 的待测样品，即可在 4 秒内获得 RNA IQ 结果。

Qubit RNA IQ 试剂盒采用两种独特的荧光染料——一种与大 RNA，完整和 / 或结构 RNA 结合，另一种选择性地结合较小、

降解的 RNA (图 5)，两种染料结合使用，可快速地评估 RNA 样品的完整性和质量。使用时，您只需将样本加入 RNA IQ 工作液，然后在 Qubit 4 荧光计上完成检测。检测结果会提供 RNA 样品完整性和质量的总数值或 RNA IQ#，以及样本中大小 RNA 的百分比值 (图 6)。与其他 RNA 质量分数类似，RNA IQ# 评分范围为 1 到 10，数值越大，说明 RNA 的质量越高，完整性越好。

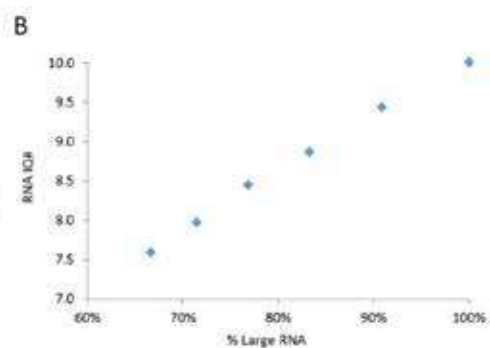
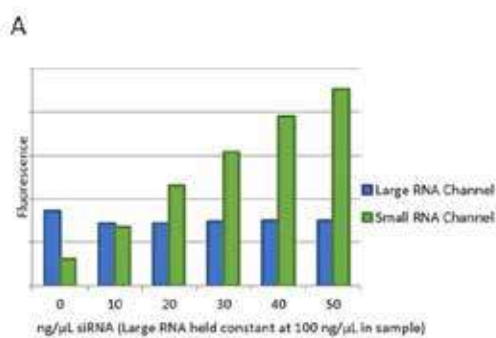


图 5. RNA IQ 试剂选择性结合大 RNA 和小 RNA。三个含相同 100 ng/mL rRNA (*E. coli*) 和不同含量 siRNA (0 到 50 ng/ μ L) 的样本都使用 Qubit RNA IQ assay (Q33221, Q33222) 在 Qubit 4 荧光计上检测。A 图和 B 图分别展示了相对荧光单位值 RFUs (A) 和 IQ# 值 (B)。

图 6. Qubit 4 荧光计和 Qubit RNA IQ 结果

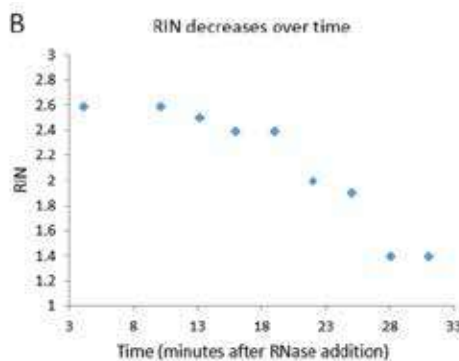
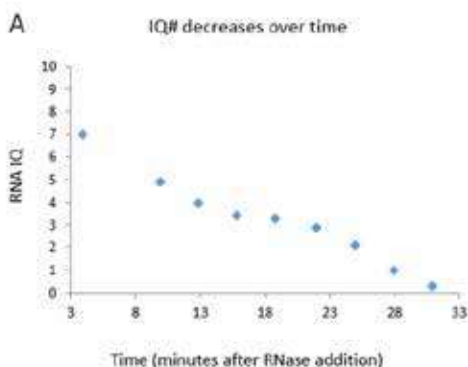
与电泳法相比，RNA IQ 检测法有何优势？

Qubit RNA IQ 为检测 RNA 样本是否降解提供一种快速简单的方法。与基于微流体芯片法比较，RNA IQ 法需要的设备便宜，操作简单，更重要的是检测所需的时间大大缩短。通常来说，完成 12 个样品的检测，RNA IQ 法约需要 10 分钟，而使用微流体法，约需要 75 分钟。如果您只是需要简单评估 RNA 样品是否降解，可以使用 RNA IQ 法快速完成检测，但如果您需要获取具体的 RNA 片段大小及分布信息，我们依然推荐您使用基于凝

胶或微流体的电泳方法。

RNA IQ 检测结果反映样本中大 RNA 和 / 或结构 RNA 和小 RNA 的百分比，其数值与电泳法结果正相关 (图 7)。然而，需要注意的是 IQ# 值反映的是样本中大小 RNA 的比值，由于计算原理不同，IQ# 值与其他质量评估方法得到的结果之间存在一些差异 (图 8)。对特定样本或下游应用，我们推荐您最开始同时使用 RNA IQ 试剂盒和传统电泳法来确定测量值的相关性。

图 7. rRNA 经 RNase 酶处理，随后用 Qubit RNA IQ Assay 或 Agilent Bioanalyzer™ 仪器评估完整性和质量。将 750 fM Rnase A 加入相同量的 100 ng/mL rRNA (*E. coli*) 溶液中，在不同的时间点用 RNase OUT 处理，然后用 Qubit RNA IQ Assay 在 Qubit 4 荧光计 (A) 仪器或 Agilent Bioanalyzer™ Prokaryote Total RNA Nano chip (B) 检测。



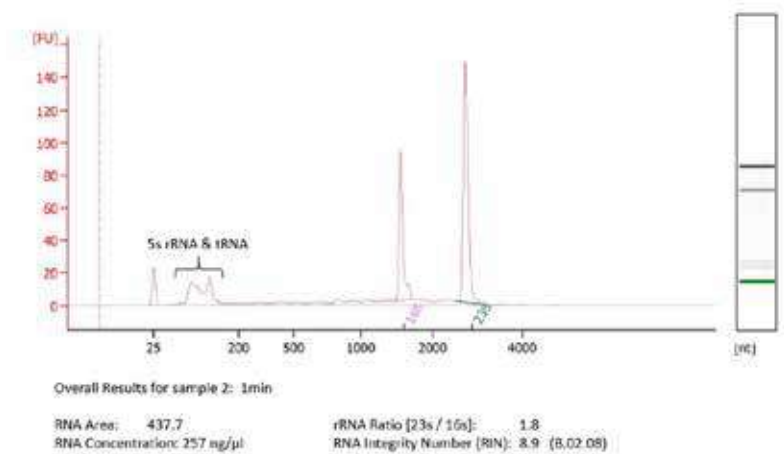


图 8. 总 RNA 经 RNAase 处理 1 min 后，使用 Qubit RNA IQ assay 和 Agilent Bioanalyzer™ 仪器检测 RNA 完整性和质量。rRNA 经 0.5pg/μL RNase A 处理，1 min 后加入 RNaseOUT。样品通过 Prokaryote Total RNA Nano Chip 或 Qubit RNA IQ Assay (货号: Q33221, Q33222) 在 Qubit 4 荧光计上检测。质量分数的差异，IQ#: 9.8 和 RIN#: 8.9 是 5s rRNA 和 tRNA 展示三级结构和结合大 RNA 染料的信号结果。

了解更多，请登录 thermofisher.com/qubitrnaiq

仪器参数

特异性	专利 Molecular Probes 荧光染料，只与特定分子结合才发荧光，可专一性地定量 dsDNA、ssDNA、RNA、microRNA 和蛋白质；轻松快速检测 RNA 完整性和质量 (RNA IQ)
灵敏度	dsDNA 0.01 ng/μL, ssDNA 0.05 ng/μL, RNA 0.25 ng/μL, microRNA 0.05 ng/μL, 蛋白质 12.5 ng/μL
上样范围	1-20μL
处理时间	≤5 秒 / 样品
动态范围	5 个数量级
光源	蓝色 LED(最大 ~470 nm), 红色 LED (最大 ~635 nm)
激发通道	蓝光 430-495 nm; 红光 600-645 nm
发射通道	绿光 510-580 nm; 红光 665-720 nm
检测器	光电二极管, 测量范围 300-1,000 nm
标准曲线	2- 或 3- 点标准
预热时间	<35 秒
尺寸 (宽 x 深 x 高)	13.6 cm x 25 cm x 5.5 cm
重量	743 g
仪器存储	机载最多储存 1000 个样品数据, U 盘无限制
数据输出	USB 闪存或 USB 数据线直接与电脑连接存取数据
显示界面	5.7 英寸彩色 LCD 触摸屏
操作语言	包括简体中文、英语、法语、西班牙语、意大利语、德语和日语
数据连接性	除 U 盘和 USB 连接线导出数据至电脑外, 还拥有 WiFi 功能
其他功能	<ol style="list-style-type: none"> 1. 自带试剂计算器, 快速计算工作溶液配方 2. 可通过图形提示样品是否超过测量范围 3. 利用 MyQubit 在线设计工具, 自定义创建和设计新分析应用 4. 荧光计模式: 可用于直接测量样品的荧光强度 5. 可用于检测 Ion Sphere Particle 的质量, 以用于 Ion PGM 测序仪 6. 仪器自检: 用于客户自行检测仪器内部元件是否正常
电源	100-240 VAC, 1.0A/1.2A
工作环境	温度 10-40°C, 湿度 20-80%

订购信息

产品	包装	货号
Qubit 荧光计及套装		
Qubit 4 荧光计	Qubit 4 荧光计 1 台, WiFi dongle 1 个	Q33238
Qubit 4 定量入门套装	<ul style="list-style-type: none"> •1 Qubit 4 Fluorometer •1 WiFi dongle •1 1X dsDNA HS (100 assays) •1 dsDNA BR (100 assays) •1 RNA IQ assay(75 assays) 	<ul style="list-style-type: none"> •1 System Verification Assay Kit(50 assays) •1 RNA HS assay (100 assays) •1 RNA BR assay (100 assays) •1 Protein assay (100 assays) •Qubit assay tubes(500 tubes)
Qubit 4 NGS 入门套装	<ul style="list-style-type: none"> •1 Qubit 4 Fluorometer •1 1X dsDNA HS (500 assays) 	<ul style="list-style-type: none"> •Qubit assay tubes(500 tubes) •1 WiFi dongle
Qubit 4 RNA IQ 入门套装	<ul style="list-style-type: none"> •1 Qubit 4 Fluorometer •1 RNA IQ assay (275 assays) 	<ul style="list-style-type: none"> •Qubit assay tubes(500 tubes) •1 WiFi dongle
DNA assay kits		
Qubit 1X dsDNA HS Assay Kit	100 assays	Q33230
	500 assays	Q33231
Qubit dsDNA HS Assay Kit	100 assays	Q32851
	500 assays	Q32854
Qubit dsDNA BR Assay Kit	100 assays	Q32850
	500 assays	Q32853
Qubit ssDNA Assay Kit	100 assays	Q10212
RNA assay Kits		
Qubit RNA IQ Assay Kit	75 assays	Q33221
	275 assays	Q33222
Qubit RNA XR Assay Kit	100 assays	Q33223
	500 assays	Q33224
Qubit RNA BR Assay Kit	100 assays	Q10210
	500 assays	Q10211
Qubit RNA HS Assay Kit	100 assays	Q32852
	500 assays	Q32855
Qubit microRNA Assay Kit	100 assays	Q32880
	500 assays	Q32881
Protein Assay Kits		
Qubit Protein Assay Kits	100 assays	Q33211
	500 assays	Q33212
Tubes, Standards and other Assays		
Qubit Assay Tubes	500 tubes	Q32856
Qubit 4 System Verification Assay Kit	50 assays	Q33237
Qubit 1x dsDNA – lambda standard	5 mL	Q33233
Qubit RNA IQ Assay – RNA Standards	1 set	Q33235
Qubit RNA XR Assay – RNA standard	5 each	Q33236

- 注: 1. Qubit RNA IQ assay 和 Qubit 4 System Validation Assay 只可以在 Qubit 4 上使用, 不可用于 Qubit、Qubit 2.0 或 Qubit 3 荧光计。
 2. Qubit RNA XR kits 相比 Qubit RNA BR kits, 拥有更宽动态范围。
 3. Qubit 1X dsDNA HS Assay Kit 为即用型试剂盒, 无需配置工作液, 直接加样即可上机检测, 与 Qubit dsDNA HS Assay 拥有相同的灵敏度。
 4. 新品 1X dsDNA HS 或 RNA XR assays 亦适用于 Qubit 2.0 和 Qubit 3 荧光计, 但需要从网站下载 MyQubit.qbt 文件更新仪器按钮和算法。

了解更多, 请登录 thermofisher.com/qubit

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures. © 2019 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.

ThermoFisher
SCIENTIFIC